

# PENGARUH PEMBERIAN ASAM HIALURONAT JELI 0,8% TERHADAP KECEPATAN PROSES PENYEMBUHAN LUKA PASCA FRAKTUR SIMPISIS MANDIBULA (Studi Eksperimental pada *Cavia cobaya* tentang pembentukan Angiogenesis, serabut kolagen dan osteoblas)

Eka Widiyanta \*, Masykur Rahmat \*\*, dan Poerwati Soetji Rahajoe \*\*

\* Program Studi Bedah Mulut PPDGS FKG UGM

\*\* Bagian Ilmu Bedah Mulut FKG UGM

## ABSTRAK

Proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula merupakan respon alami dari jaringan tubuh. Tahap koagulasi akan mengawali proses ini dilanjutkan pembentukan jaringan granulasi pada fase proliferasi dan diakhiri fase remodeling. Angiogenesis berperan dalam proses proliferasi, kolagen berinteraksi pada matrik ekstraseluler sedangkan osteoblas bertanggung jawab terhadap pembentukan tulang baru.

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi tentang pengaruh aplikasi asam hialuronat jeli 0,8% terhadap kecepatan proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula dengan mengamati angiogenesis, kepadatan kolagen dan osteoblas.

Penelitian eksperimental murni dilakukan terhadap 20 ekor marmot, yang dibagi kedalam 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Pada kelompok perlakuan dilakukan fraktur buatan pada simpisis mandibula dengan menggunakan bur fisur tulang, kemudian diaplikasikan asam hialuronat jeli 0,8% pada garis fraktur dan dilakukan fiksasi semi rigid dengan kawat 0,2 mm. Pada kelompok kontrol hanya dilakukan fraktur buatan pada simpisis mandibula tanpa aplikasi asam hialuronat jeli 0,8%. Potongan jaringan tulang mandibula dilakukan pengecatan Hematoksin Eosin untuk melihat angiogenesis hari ke-3, pengecatan Mallory untuk melihat kepadatan kolagen hari ke-3 dan 14 serta untuk melihat osteoblas hari ke-14.

Berdasarkan analisis statistik uji-t menunjukkan adanya perbedaan jumlah pembuluh darah baru dan osteoblas antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $p: 0,000$ ). Analisis statistik dengan uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan signifikan kepadatan serabut kolagen antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ( $p: 0,000$ ), sedangkan berdasarkan hari pengamatan peningkatan ketebalan serabut kolagen lebih banyak pada hari-14 daripada hari-3 ( $p: 0,000$ ). Untuk kelompok perlakuan, perbandingan potongan apikal dengan medial ( $p: 0,190$ ), koronal dengan apikal ( $p: 0,190$ ) dan potongan koronal dengan medial ( $p: 1,000$ ).

Kesimpulan penelitian ini adalah asam hialuronat jeli 0,8% mempunyai pengaruh terhadap kecepatan proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula.

**Kata kunci:** asam hialuronat jeli 0,8%, fraktur simpisis mandibula, serabut kolagen, angiogenesis, osteoblas

## ABSTRACT

Wound recovery process following mandibular symphysis fracture is a natural response of the body tissues. The coagulation phase initiates the process followed by forming granulation tissue during the proliferation phase which ends up with the remodeling phase. Angiogenesis contributes to the proliferation process, collagen interacts in the extracellular matrix and osteoblast is responsible for growing new bones.

The study aims to find out the effect of 0.8% hyaluronic acid jelly application towards wound recovery process following mandibular symphysis fracture by observing angiogenesis and density of collagen and osteoblast.

The pure experimental research was conducted to 20 guinea pigs in which they were divided into 2 groups namely the treated group and the control group. To the experimental group, an artificial fracture was made on the mandibular symphysis using a bone fissure bur after which 0.8% hyaluronic acid jelly was applied on the fracture line. To the control group, the artificial fracture was made on the mandibular symphysis without applying 0.8% hyaluronic acid jelly as performed to the treated group. On the cut tissue of mandibular bone, Mallory staining was done, in which an observation was conducted on the 3<sup>rd</sup> day to observe angiogenesis and to identify collagen

density on the 14<sup>th</sup> days. Meanwhile, Hematoxylin Eosin was done, in which angiogenesis observation was conducted on the 3<sup>rd</sup> day.

The t-Test statistical analysis suggests that the difference in number of new blood vessels between the control group and the treated group ( $p=0.000$ ). Meanwhile, the statistical analysis with Mann-Whitney Test indicates that there is a significant difference in thickness of collagen fibers between the experimental group to which 0.8% hyaluronic acid jelly was applied and the control group ( $p=0.000$ ). Meanwhile, based on the observation days, it suggests that thickness of collagen fibers increases more on the 14<sup>th</sup> day than on the 3<sup>rd</sup> day is ( $p=0.000$ ). In the treated group, the comparison of apical to medial cut ( $p=0.190$ ), coronal to apical ( $p=0.190$ ), and coronal to medial cut ( $p=1.000$ ).

The result of the study suggests that 0.8% hyaluronic acid jelly gives significant effects to the speed of wound recovery following mandibular symphysis fracture.

**Key words:** 0.8% hyaluronic acid jelly, mandibular symphysis fracture, collagen fibers, angiogenesis, osteoblast

## PENDAHULUAN

Penyembuhan luka merupakan proses dinamis dan interaktif yang melibatkan mediator-mediator radang, sel-sel darah, matriks ekstra seluler serta sel-sel parenkim. Proses penyembuhan tersebut merupakan rangkaian peristiwa yang berkesinambungan berupa koordinasi aktifitas seluler, aktifitas fagositosis, kemotaksis, sintesa kolagen dan sintesa komponen matrik ekstraseluler. Proses penyembuhan tersebut pada dasarnya sama pada semua jaringan tubuh, respon penyembuhan dimulai segera sesaat setelah jaringan tubuh mengalami luka<sup>1</sup>.

Angiogenesis menghasilkan aliran darah yang banyak pada luka dan secara konsekuen meningkatkan perfusi faktor-faktor penyembuhan. Angiogenesis berhenti apabila jumlah pembuluh darah baru yang diperlukan sudah adekuat, pembuluh darah baru yang tidak diperlukan lagi akan hilang dengan apoptosis<sup>2</sup>.

Kolagen merupakan sebagian besar jenis protein di dalam tubuh manusia dan hewan, berbentuk serabut, dan merupakan bagian utama jaringan ikat yang diperlukan pada keadaan penyembuhan luka, pembentukan jaringan parut serta pembentukan matriks kolagen. Selama proses perbaikan tulang yang rusak, peranan kolagen berhubungan dengan pembentukan serabut kolagen baru oleh fibroblas yang akan memberikan kemampuan pada jaringan untuk melakukan perbaikan jaringan baru<sup>3</sup>.

Osteoblas merupakan sel-sel pembentuk sel tulang. Sel ini melakukan

kegiatan sintesis dan sekresi mineral-mineral keseluruhan substansi dasar dan substansi pada daerah yang memiliki kecepatan metabolisme tinggi yang mensintesis dan menjadi perantara mineralisasi osteoid. Osteoblas ditemukan dalam satu lapisan pada permukaan jaringan tulang sebagai sel berbentuk kuboid atau silindris pendek yang saling berhubungan melalui tonjolan-tonjolan pendek.

Asam hialuronat adalah suatu mukopolisakarida alami termasuk kelompok glikosaminoglikan yang terdiri dari asam glukoronik dan N-asetilglukosamid (1:1), merupakan komponen utama dari semen interseluler, matriks ekstraseluler dan dinding kapiler dari jaringan ikat yang terdapat dalam jumlah banyak pada alveolar. Aktifitas asam hialuronat dalam mengatasi inflamasi dan infeksi, bersamaan dengan kapasitasnya untuk mempercepat penyembuhan luka, kegunaannya diperluas untuk terapi inflamasi dan lesi pada mulut<sup>4</sup>.

Berdasarkan beberapa penelitian pendahulu, penulis ingin meneliti pengaruh pemberian asam hialuronat jeli 0,8% terhadap kecepatan proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula dengan mengamati angiogenesis, kolagen dan osteoblas yang dilakukan pada hewan percobaan marmot (*Cavia cobaya*) dengan melakukan aplikasi asam hialuronat jeli 0,8% segera setelah terjadi fraktur simpisis mandibula.

## METODE PENELITIAN

Untuk mengetahui pengaruh pemberian asam hialuronat jeli 0,8% terhadap kecepatan

proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula, maka telah dilakukan suatu penelitian eksperimental murni terhadap 20 ekor marmot sebagai binatang percobaan yang telah memenuhi kriteria inklusi. Sebelum dilakukan penelitian, seluruh marmot telah mengalami karantina selama satu minggu dengan tujuan untuk adaptasi dengan lingkungan dan pakan yang sesuai dengan standar uji hewan percobaan.

Seluruh marmot dibagi dalam dua kelompok, kelompok I adalah kelompok perlakuan sebanyak 10 ekor dan kelompok II adalah kelompok kontrol juga sebanyak 10 ekor. Pada kelompok perlakuan, seluruh marmot dilakukan fraktur buatan pada simpisis mandibula, kemudian diaplikasikan asam hialuronat jeli 0,8% pada garis fraktur simpisis mandibula. Selanjutnya kelompok ini dibagi menjadi dua sub kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor yang akan dilakukan dekapitasi pada hari ke-3 dan hari ke-14. Pada kelompok kontrol, terhadap seluruh marmot hanya dilakukan fraktur buatan pada simpisis mandibula dengan bur fisure tanpa diberi asam hialuronat jeli 0,8%, kemudian kelompok ini dibagi menjadi dua sub kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor yang akan dilakukan dekapitasi pada hari ke-3 dan hari ke-14.

Marmot dipilih sesuai kelompoknya, dilakukan dekapitasi pada hari ke-3 dan hari ke-14 dengan cara diseksi mandibula, kemudian dilakukan pemotongan bagian ramus mandibula untuk pembuatan sediaan penelitian atau preparat penelitian. Pemeriksaan histologi menggunakan pewarnaan Hematoksilin Eosin untuk mengamati angiogenesis dan pewarnaan Mallory untuk mengamati serabut kolagen dan osteoblas. Masing-masing preparat diamati dalam 3 potongan sediaan yaitu koronal, medial dan apikal. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran sebesar 400X (pada lensa okuler 10X dan lensa obyektif 40X). Area yang diamati adalah daerah sekitar garis fraktur simpisis mandibula.

Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan di bawah mikroskop cahaya dengan fokus utama angiogenesis, serabut kolagen dan osteoblas pada garis fraktur. Untuk melihat angiogenesis dilakukan pengamatan histologi pada hari ke-3 antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan uji-t menggunakan lapang pandang

besar (LPB). Pengamatan osteoblas dilakukan pada hari ke-14 antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan uji-t menggunakan lapang pandang besar (LPB), sedangkan kriteria penilaian kepadatan serabut kolagen adalah: (Asdar, 2001) ( - ) atau 0: tidak tampak serabut kolagen; ( + ) atau 1: serabut kolagen terlihat sangat tipis atau sedikit; ( ++ ) atau 2: serabut kolagen menyebar sangat tipis/sedikit; ( +++ ) atau 3: serabut kolagen menyebar sedang; ( ++++ ) atau 4: serabut kolagen menyebar padat atau tebal.

## HASIL PENELITIAN

**Tabel 1.** Hasil pengamatan histologi angiogenesis dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin

Hari	No. Sediaan	Kelompok kontrol	Kelompok perlakuan
3	I	15,5	27
	II	15	25,5
	III	13	26,5
	IV	14	26,5
	V	14,5	25,5
Rata-rata		14,5	26,2

Berdasarkan Tabel 1, jumlah pembuluh darah baru pada proses angiogenesis pengamatan hari ke-3 kelompok perlakuan tampak lebih banyak daripada kelompok kontrol. Rata-rata jumlah sel pada kelompok kontrol 14,5 sedangkan untuk kelompok perlakuan 26,2.

**Tabel 2.** Hasil statistik uji-t, angiogenesis antara kelompok kontrol dan perlakuan

Hari	Angiogenesis		p
	Kelompok kontrol	Kelompok perlakuan	
3	14,5 ± 0,87	26,2 ± 0,72	0,000

Berdasarkan Tabel 2, secara statistik dengan hasil uji-t memberikan hasil yang

bermakna ( $p:0,000$ ), hal ini memberi arti bahwa secara signifikan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan.

**Tabel 3.** Hasil pengamatan ketebalan serabut kolagen kelompok kontrol dan perlakuan berdasarkan waktu pengamatan dan letak potongan

Hari	Sampel	Perlakuan			Kontrol		
		Koronal	Medial	Apikal	Koronal	Medial	Apikal
3	I	2	2	2	0	0	1
	II	1	2	2	0	0	1
	III	1	1	3	0	1	1
	IV	2	1	2	0	1	1
	V	2	2	2	1	0	0
14	I	2	4	3	1	1	1
	II	2	3	4	1	1	1
	III	3	3	3	2	2	2
	IV	4	2	3	0	2	1
	V	3	2	3	1	1	1

Berdasarkan Tabel 3, pengamatan hari ke-3 kelompok kontrol ditemukan gambaran sedikit serabut kolagen, hal ini terlihat dari nilai skor 0 dan 1 yang banyak sedangkan serabut kolagen kelompok perlakuan ditemukan lebih banyak serabut kolagen terbentuk, hal ini terlihat dari banyaknya nilai skor 2. Pengamatan hari-14 kelompok kontrol ditemukan gambaran serabut kolagen yang masih sedikit, hal ini terlihat dari nilai skor 1 yang banyak, sedangkan unsur kolagen pada kelompok perlakuan lebih banyak, hal ini terlihat dari banyaknya nilai skor 3. Unsur kolagen yang ditemukan pada hari ke-3 merupakan serpihan-serpihan kolagen yang rusak berasal dari kolagen yang sudah ada sebelumnya.

**Tabel 4.** Distribusi kepadatan serabut kolagen berdasarkan letak potongan

Hari	Skor	Perlakuan			Kontrol		
		Koronal	Medial	Apikal	Koronal	Medial	Apikal
3	0	0	0	0	4	3	1
	1	2	2	0	1	2	4
	2	3	3	4	0	0	0
	3	0	0	1	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	1	0	0
	1	0	0	0	3	3	4
	2	2	2	0	1	2	1
	3	2	2	4	0	0	0
	4	1	1	1	0	0	0

Berdasarkan Tabel 4, kepadatan serabut kolagen potongan bagian apikal lebih

banyak terbentuk serabut kolagen daripada bagian medial dan koronal, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Hal ini terlihat dari distribusi skor nilai 3 dan 4 lebih banyak di bagian apikal daripada bagian medial dan koronal, hal ini dapat diartikan bagian apikal lebih cepat terbentuk dan lebih banyak unsur kolagen.

**Tabel 5.** Distribusi ketebalan serabut kolagen berdasarkan waktu pengamatan

Hari	Skor	Perlakuan	Kontrol
3	0	0	8
	1	4	7
	2	10	0
	3	1	0
	4	0	0
14	0	0	1
	1	0	10
	2	4	4
	3	8	0
	4	3	0

Berdasarkan Tabel 5, kepadatan serabut kolagen antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan berdasarkan waktu pengamatan, hari ke-14 terlihat lebih banyak serabut kolagen dari pada hari-3, hal ini dapat dilihat dari banyaknya skor nilai 3 dan 4 pada kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol sedikit lambat dengan hanya terlihat nilai skor 2 pada hari ke-14.

**Tabel 6.** Rangkuman hasil statistik uji Mann Whitney

Jenis pengamatan kolagen		P	Z
Kontrol dan perlakuan		0,00	
Berdasar hari pengamatan	H-3	0,00	-4,317
	H-14	0,00	-4,507
Perbandingan perlakuan hari	Kontrol	0,000	
	Perlakuan	0,005	
Berdasar letak potongan	Koronal	0,01	
	Medial	0,05	
	Apikal	0,00	
	Koronal-Medial	1,000	
Kelompok Perlakuan	Koronal-Apikal	0,190	
	Medial-Apikal	0,190	

Analisis statistik untuk uji hipotesis untuk melihat kepadatan serabut kolagen adalah uji Mann-Whitney dengan 4 pengamatan yaitu membandingkan antara kelompok kontrol

dengan perlakuan, pengamatan berdasarkan hari pengamatan, pengamatan berdasarkan kelompok dengan hari dan pengamatan berdasarkan letak potongan. Kriteria pengujiannya adalah: Hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa pengujian memberikan nilai  $H_0 < H_1$ , berarti hipotesis kerja diterima. Hal ini mengandung arti bahwa pemberian asam hialuronat jeli 0,8% pada luka pasca fraktur simpisis mandibula marmot bersifat signifikan atau bermakna secara statistik dengan taraf signifikansi 95% atau tingkat kekeliruan sebesar 5%.

Faktor hari pengamatan: Hasil pengujian dengan uji Mann-Whitney memberikan nilai  $p: 0,00$  yang bersifat sangat bermakna secara statistik baik pada pengamatan hari ke-3 maupun hari ke-14, namun pada hari ke-14 lebih baik dari pada hari ke-3 karena nilai  $Z$  lebih kecil ( $-4,507 < -4,317$ ). Hal ini memperlihatkan bahwa faktor waktu sangat berpengaruh terhadap terbentuknya serabut kolagen, semakin lama semakin banyak jumlah serabut kolagen terbentuk (pada pengamatan hari ke-3 masih sedikit terbentuk serabut, berbeda dengan pengamatan hari ke-14).

Faktor perlakuan: Hasil pengujian dengan uji Mann Whitney memberikan nilai  $p: 0,00$ , hal ini berarti bahwa kepadatan serabut kolagen dipengaruhi oleh pemberian asam hialuronat jeli 0,8%.

Faktor perlakuan hari: Hasil pengujian dengan uji Mann Whitney memberikan nilai  $p: 0,00$  untuk kontrol dan nilai  $p: 0,05$  pada kelompok perlakuan, hal ini berarti bahwa kepadatan serabut kolagen dipengaruhi oleh pemberian asam hialuronat jeli 0,8%.

Faktor letak potongan: Hasil pengujian dengan uji Mann Whitney memberikan hasil yang bermakna pada semua bagian potongan, nilai  $p: 0,01$  pada bagian koronal,  $p: 0,05$  pada bagian medial dan  $p: 0,00$  bagian apikal. Pada kelompok perlakuan perbandingan hasil yang di dapat berdasarkan letak potongan terlihat bahwa potongan antara medial dengan apikal ( $p: 0,190$ ) serta antara koronal dengan apikal ( $p: 0,190$ ) lebih banyak terdapat serabut kolagen dibandingkan dengan koronal dengan medial ( $p: 1,00$ ). Hal ini berarti asam hialuronat jeli 0,8% berpengaruh paling baik pada potongan bagian apikal, jumlah serabut kolagen terlihat lebih banyak dibandingkan dengan bagian medial dan koronal.

Berdasarkan Tabel 7, jumlah osteoblas hari ke-14 pada kelompok perlakuan tampak lebih banyak daripada kelompok kontrol. Rata-rata jumlah osteoblas pada kelompok kontrol 37,6 sedangkan untuk kelompok perlakuan 75,2.

**Tabel 7.** Hasil pengamatan histologi osteoblas dengan pewarnaan Mallory

Hari	No. Sediaan	Kelompok kontrol	Kelompok perlakuan
14	I	35	65
	II	37	76
	III	40	79
	IV	44	80
	V	32	76
Rata-rata		37,6	75,2

**Tabel 8.** Hasil statistik uji-t, osteoblas antara kelompok kontrol dengan perlakuan

Hari	Osteoblas		p
	Kelompok kontrol	Kelompok perlakuan	
14	37,60 ± 4,62	75,20 ± 5,97	0,000

Berdasarkan Tabel 8, secara statistik dengan hasil uji-t memberikan hasil yang bermakna ( $p: 0,000$ ), hal ini memberi arti bahwa terdapat perbedaan secara signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian secara keseluruhan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan angiogenesis, kepadatan serabut kolagen dan osteoblas antara kelompok kontrol dan perlakuan yang sangat bermakna secara statistik, yaitu memberikan hasil  $p: 0,00$  dengan uji-t dan nilai  $p: 0,00$  ( $< 0,05$ ) dengan uji Mann Whitney sehingga ada suatu perbedaan pengaruh pemberian asam hialuronat jeli 0,8% terhadap angiogenesis, kepadatan serabut kolagen dan osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula. Hasil penelitian ini mendukung beberapa penelitian sebelumnya terhadap penyembuhan luka, salah satunya adalah

penelitian yang menyebutkan ada perbedaan kepadatan serabut kolagen antara kelompok hewan percobaan yang diberi asam hialuronat jeli 0,8% dengan yang tidak diberi.<sup>5</sup>

Dari data pengamatan di atas didapatkan hasil rata-rata jumlah pembentukan pembuluh darah baru pada kelompok kontrol adalah 14,5 sedangkan pada kelompok perlakuan 26,2. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dari kelompok kontrol dan perlakuan yang berarti asam hialuronat jeli 0,8% terbukti efektif dalam memacu proses angiogenesis. Secara statistik dengan uji t memberikan hasil  $p:0,000$  sehingga terdapat perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan dan kontrol, antara yang diberi asam hialuronat jeli 0,8% dan yang tidak diberi.

Proses angiogenesis pada fase proliferasi sangat dibutuhkan, salah satunya untuk metabolisme sel-sel fibroblas. Kebutuhan nutrisi dan oksigen diperlukan untuk aktifitas proliferasi serta interaksinya bersama matriks kolagen dalam pembentukan serabut kolagen. Serabut-serabut kolagen yang terbentuk dibutuhkan untuk perbaikan jaringan pada fase remodeling berikutnya.

Asam hialuronat diperkirakan membantu angiogenesis dengan mengikat diri dengan reseptor CD44 pada makrofag, sehingga memicu mediator sitokin seperti TNF- $\alpha$  dan IL- $\beta$ , hal ini akan meningkatkan produksi reseptor hialuronan lainnya seperti ICAM-1. Pengikatan hialuronan pada reseptor ini akan memfasilitasi fungsi sel-sel endotel sehingga dengan demikian akan memicu terjadinya angiogenesis. Dari reseptor tersebut, mungkin pengikatan hialuronan pada ICAM-1 adalah yang paling signifikan dalam memicu terjadinya angiogenesis. Angiogenesis merupakan peristiwa pembentukan pembuluh-pembuluh darah baru yang mensuplai oksigen dan nutrisi yang diperlukan pada metabolisme sel.<sup>6,7</sup>

Pengaruh waktu menunjukkan hasil adanya perbedaan yang bermakna antara pengamatan hari ke-3 dan hari ke-14 pasca fraktur simpisis mandibula. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol kemungkinan reaksi peradangan lebih lambat jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Dengan adanya fibroblas, asam amino (glisin, prolin dan hidroksilasi prolin) dibentuk menjadi rantai polipeptida yang dikenal sebagai protokolagen selanjutnya dengan melalui beberapa proses enzimatik protokolagen

tersebut diubah menjadi serabut kolagen yang matang<sup>8</sup>. Dengan demikian adanya fibroblas inilah yang menyebabkan pertumbuhan serabut kolagen setelah hari ke-3 dan ke-14 pada kelompok perlakuan yang diberi asam hialuronat jeli 0,8% menjadi kelompok bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diberi asam hialuronat jeli 0,8%. Hal ini dapat diartikan bahwa proses kolagenisasi pada kelompok perlakuan lebih cepat daripada kelompok kontrol.

Penyembuhan luka berdasarkan waktu dan ciri terbagi menjadi 2 yaitu: pertama, proses penyembuhan luka primer yaitu penyembuhan yang terjadi pada luka tanpa adanya infeksi, luka bersih, reaksi peradangan minimal dan ringan, trauma minimal, tidak ada kehilangan jaringan dan tepian luka berada pada posisi asal. Regenerasi epitel akan berlangsung cepat, sehingga proses penyembuhan luka primer berjalan cepat. Kedua, proses penyembuhan luka sekunder yaitu penyembuhan luka yang terjadi pada luka dengan trauma yang luas dan parah, terdapat kehilangan jaringan sehingga ada jarak antara kedua tepi luka, terdapat invasi mikroorganisme patogen, pada keadaan ini biasanya penyembuhan luka berjalan lambat<sup>9,10</sup>.

Luka pasca fraktur simpisis mandibula termasuk proses penyembuhan luka sekunder, karena terdapat jarak antara kedua tepian luka. Proses penyembuhan terjadi pada garis fraktur. Fibroblas dan kolagen akan memenuhi luka dan terjadi proses remodeling selama perbaikan jaringan, penyembuhan luka akan berjalan lama.

Seperti pada proses penyembuhan luka pada umumnya maka proses penyembuhan luka fraktur akan melewati serangkaian tahapan yang meliputi tahap inflamasi, tahap proliferasi dan tahap remodelling/maturasi. Namun pada luka bekas fraktur, proses penyembuhan luka tidak terjadi secara ideal seperti pada luka di kulit. Hasil penyembuhan tidak dapat diduga, bisa menghasilkan penyembuhan yang baik atau bahkan tidak sesuai dengan apa yang diharapkan<sup>1,9,10</sup>.

Proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu faktor lokal dan faktor sistemik. Faktor-faktor lokal yang mempengaruhi antara lain; suplai darah yang mengangkut oksigen dan nutrisi ke daerah luka, terjadinya infeksi, obat-obatan dan bahan-bahan topikal yang digunakan secara

topikal pada permukaan luka serta gerakan-gerakan pada daerah luka. Sedangkan faktor-faktor sistemik yang mempengaruhi yaitu; protein, vitamin C, umur, temperature, hormon dan penyakit sistemik seperti diabetes mellitus<sup>10,11</sup>.

Tahap awal proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula adalah tahap inflamasi, tahap ini dapat berlangsung 1–3 hari. Vaskularisasi yang rusak pada tepian luka menyebabkan perdarahan dimana selanjutnya terjadi gumpalan darah dalam beberapa detik. Gumpalan darah terbentuk dari gumpalan trombosit dan serabut fibrin. Selanjutnya proses peradangan dipicu oleh mediator-mediator pengendali permeabilitas pembuluh darah dan mediator-mediator pengumpul sel. Mediator-mediator tersebut dihasilkan oleh trombosit, sel endotel, sel keratinosit dari epitel, sel-sel radang, sistem komplemen dan sistem kinin dari serum plasma<sup>9,10</sup>.

Tebalnya serabut kolagen pada kelompok perlakuan pada hari ke-3, dipengaruhi oleh adanya penambahan asam hialuronat jeli 0,8% secara eksogen. Penambahan asam hialuronat jeli 0,8% pada garis fraktur simpisis mandibula turut membantu meningkatkan konsentrasi asam hialuronat pada matriks ekstraseluler yang menjadi jalan dan tempat berlangsungnya migrasi sel-sel fibroblas. Semakin tinggi konsentrasi asam hialuronat dan TGF Beta dengan dosis tertentu maka semakin tinggi aktifitas migrasi sel-sel fibroblas<sup>6</sup>.

Berdasarkan letak potongan, bagian apikal lebih bermakna dibandingkan dengan bagian medial dan koronal, hal ini bisa dimungkinkan karena jenis asam hialuronat yang digunakan berbentuk jeli sehingga banyak terkumpul di bagian apikal. Secara statistik, potongan apikal memberikan hasil  $p:0,00$ . Hal ini menunjukkan bahwa tingkat pembentukan serabut kolagen pada bagian apikal lebih cepat dibandingkan dengan bagian koronal ( $p:0,01$ ) dan medial ( $p:0,05$ ). Sedangkan pada kelompok perlakuan perbandingan potongan antara medial dan apikal sama dengan koronal dan apikal ( $p:0,190$ ) yang bersifat lebih baik daripada potongan bagian koronal dan medial ( $p:1,00$ ). Tebalnya serabut kolagen karena sifat fisiokimia asam hialuronat juga membantu migrasi sel, ia menyediakan suatu media *Hydrated Matrix* yang mempermudah pergerakan sel.

Pengaruh asam hialuronat (pada dosis tertentu) terhadap migrasi sel diakibatkan oleh interaksi dengan reseptor hyaluronan (CD44, ICAM-1 dan RHAMM). CD 44 merupakan molekul adesi multifungsi yang mempunyai fungsi sebagai reseptor untuk asam hialuronat, kolagen tipe I dan fibronectin. Jumlah populasi reseptor yang lebih banyak akan mengikat lebih banyak asam hialuronat, dan menimbulkan migrasi fibroblas ke daerah luka lebih tinggi. Oleh karena itu semakin tinggi jumlah fibroblas pada area luka, bisa meningkatkan serta mempercepat produksi kolagen<sup>6,12</sup>.

Serabut kolagen pada pengamatan hari ke-3 baik pada kelompok perlakuan maupun kontrol terlihat lebih sedikit, hal ini dikarenakan pada hari ke-3 merupakan tahap akhir fase inflamasi yang masih didominasi berbagai macam sel yang terlibat pada proses peradangan. Kemungkinan lain ditemukannya serabut kolagen dalam jumlah sedikit pada pengamatan hari ke-3 (baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan), yaitu adanya kolagen yang terbentuk masih dalam bentuk Tropokolagen yang berasal dari protein prokolagen yang bisa mengalami degradasi oleh enzim kolagenase. Pada tahap berikutnya tropokolagen akan berubah menjadi kolagen<sup>13</sup>.

Keberadaan asam hialuronat pada fase peradangan dengan cara memperkuat daya rentang sehingga terbentuk stabilisasi bekuan darah dan jaringan granulasi yang terbentuk pada tahap inflamasi. Stabilisasi yang kuat memberikan kekuatan yang cukup, sehingga tahan terhadap pengaruh radikal bebas. Asam hialuronat dapat memberikan pengaruh negatif terhadap Superoksida dan Hidroksil radikal, radikal-radikal bebas dapat menyebabkan kebocoran pada jaringan luka sehingga menimbulkan perdarahan baru pada luka<sup>14</sup>.

Pada penelitian ini terjadi peningkatan pembentukan serabut-serabut kolagen pada hari ke-14 pasca fraktur simpisis mandibula. Hal ini terlihat dari hasil tabel 7 bahwa skor ketebalan pada kelompok perlakuan akan bertambah besar jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, demikian juga pembentukan kolagen yang terbentuk pada hari ke-3. Secara statistik dengan uji Mann Whitney menghasilkan perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan yang diberi asam hialuronat jeli 0,8% dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas sintesa

kolagen pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.

Sintesa kolagen akan meningkat karena dampak tingginya proses proliferasi. Sintesa kolagen pada hari ke-3 dapat diamati secara histopatologis dengan pewarnaan Mallory, ditemukan sedikit bentukan serabut kolagen. Serabut-serabut ini berasal dari interaksi fibroblas dengan matriks ekstra seluler. Kolagen yang terbentuk pada hari ke-14 merupakan kolagen III.

Pemberian cairan asam hialuronat 0,2% terhadap socket bekas pencabutan gigi tikus menunjukkan proliferasi yang tinggi dari pembentukan kolagen serta pembentukan anyaman pembuluh darah baru<sup>15</sup>.

Dari data pengamatan di atas didapatkan hasil rata-rata jumlah osteoblas pada kelompok kontrol adalah 37,6 sedangkan pada kelompok perlakuan 75,2. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dari kelompok kontrol dan perlakuan yang berarti asam hialuronat jeli 0,8% terbukti efektif dalam memacu pertumbuhan osteoblas. Secara statistik dengan uji t memberikan hasil  $p:0,000$  sehingga terdapat perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan dan kontrol, antara yang diberi asam hialuronat jeli 0,8% dan yang tidak diberi.

Dalam pembentukan tulang atau juga dalam proses penyembuhan kerusakan tulang, maka tulang yang tumbuh tersebut bersifat muda atau tulang primer yang bersifat sementara karena nantinya akan diganti dengan tulang sekunder. Jaringan tulang ini berupa anyaman, sehingga disebut sebagai woven bone. Merupakan komponen muda yang tersusun dari serat kolagen yang tidak teratur pada osteoid. Woven bone terbentuk pada saat osteoblas membentuk osteoid secara cepat seperti pada pembentukan tulang bayi dan pada dewasa ketika terjadi pembentukan susunan tulang baru akibat keadaan patologis. Serabut kolagen tidak teratur merupakan ciri jaringan tulang primer, juga sedikitnya kandungan garam mineral sehingga mudah ditembus oleh sinar-X dan lebih banyak jumlah osteosit kalau dibandingkan dengan jaringan tulang sekunder.

Sel osteogenik selain dapat memberikan osteoblas juga berdiferensiasi menjadi kondroblas yang selanjutnya menjadi sel kartilago. Kejadian ini, misalnya, dapat diamati pada proses penyembuhan patah tulang.

Diferensiasi dipengaruhi oleh lingkungan, apabila terdapat pembuluh darah maka akan berdiferensiasi menjadi osteoblas, dan apabila tidak ada pembuluh darah akan menjadi khondroblas<sup>16</sup>. Selain itu, terdapat pula penelitian yang menyatakan bahwa sel osteoprogenitor dapat berdiferensiasi menjadi sel osteoklas pada permukaan dalam dari jaringan tulang.

Pemberian asam hialuronat pada kelompok perlakuan semakin meningkatkan konsentrasi asam hialuronat pada daerah luka sehingga membawa dampak ditemukannya aktifitas migrasi sel-sel fibroblas yang tinggi serta pembentukan serabut-serabut kolagen fibril yang tinggi pada hari ke-14. Pada penelitian ini, terdapat perbedaan pemberian asam hialuronat jeli 0,8% dengan yang tidak diberi terhadap kecepatan proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula, hal ini menunjukkan peranan bahan sediaan eksogen tersebut pada suatu mekanisme proses penyembuhan luka sekunder.

## KESIMPULAN DAN SARAN

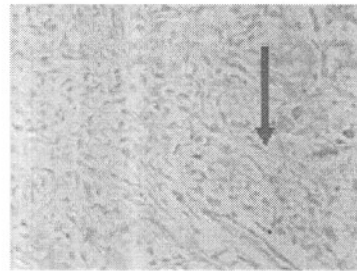
Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat pengaruh pemberian asam hialuronat jeli 0,8% terhadap kecepatan proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula sebagai berikut: 1. Pemberian asam hialuronat jeli 0,8% hari ke-3 mempengaruhi angiogenesis, pada kelompok perlakuan lebih banyak terdapat pembuluh darah baru dibandingkan dengan kelompok kontrol; 2. Pemberian asam hialuronat jeli 0,8% mempengaruhi kepadatan serabut kolagen pasca fraktur simpisis mandibula; 3. Pemberian asam hialuronat jeli 0,8% hari ke-14 mempengaruhi pembentukan osteoblas, antara kelompok perlakuan lebih banyak terdapat osteoblas daripada kelompok kontrol.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh asam hialuronat jeli 0,8% dengan memakai hewan percobaan yang jumlahnya lebih banyak, agar diperoleh hasil penelitian yang lebih terperinci mengenai pengaruh asam hialuronat jeli 0,8% terhadap proses penyembuhan luka pasca fraktur simpisis mandibula sampai terjadi penulangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan hari pengamatan yang lebih lama.



## DAFTAR PUSTAKA

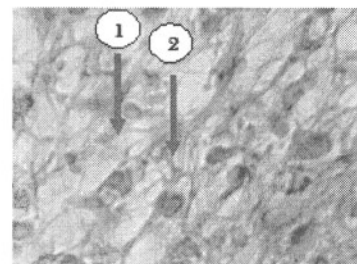
1. Hupp JR: *Wound Repair* In: Petersons, L. J., Ellis, E. III., Hupp, J. R., Tucker, M. D., *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*, 4<sup>th</sup> ed, Mosby, St. Louis, 2003: 49-55.
2. Romo II & Thomas MD: *Wound Healing Skin*, 2003, [http:// www. Earth.li/wound heal](http://www.Earth.li/wound heal), diunduh tanggal 25 Juli 2008.
3. Linder MC: *Biokimia, Nutrisi dan Metabolisme*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 1993: 98-101, 166-169, 254-256.
4. Baisse E & Einhorn TA: Action Of Hyaluronic Acid On The Wound Healing Process Following Extraction, *Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery*, 2003.
5. Sandstead, H. H., Lanier, V.C., Glenn, H., Shephard, H., and Gillespie, DD: Wound Healing, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1970; 23 (5): 514-519.
6. Brown JA: The Role Of Hyaluronic Acid In Wound Healing Proliferative Phase, *Journal Of Wound Care*, 2004; 13: 2.
7. Inkien: *Connective Tissue Formation in Wound Healing*, Helsinki University Central Hospital, Finland, 2003.
8. Diegelman T: Prognostic Significance Of Stromal Eosinophilic Infiltration In Cancer Of The Larynx, *Journal Otolaryngeal Head and Neck Surgery*, 2004; 132: 869-873.
9. Dujon GD: *Wound Healing*, Dept. Of Plastic Surgery Northern General Hospital, Sheffield, UK, 1996.
10. Andreasen JO & Simon SR: *Textbook and Color Atlas Of Tooth Impaction*, 1<sup>st</sup>. ed. Mosby Year Book, Munksgaard, St Louis, Missouri, 1997.
11. Enquist LF: *The Principles Of Wound Healing*, In Royal Davis: Christophers Textbook Of Surgery, 9<sup>th</sup> ed, W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1968: 22-32.
12. Nakamura H: *Localization Of CD 44 (Hyaluronan Receptor) And Hyaluronan In Rat Mandible Condyle*, Nakam, A.po.mdu.ac.jp. Japan, jan. 2005; 53 (1): 113-120.
13. Robbins SL & Cotran RS: *Basic Patology*, 6<sup>th</sup>ed., W.B., Saunders Co., Philadelphia, London, 1989: 52-54.
14. Moseley R: Hyaluronan and Its Potential Role In Periodontal Healing, *Dental Update J.*, 2002; 29: 3.
15. Murata Y: *Effect Of Hyaluronic Acid In Tooth Extraction Cavity Of Rats*, Osaka Dental Unio, Hirakato, Japan, 2003.
16. Regan MC & Barbul A: *The cellular Biology of Wound Healing*, 1998, [http:// www. Earth.li/mathbiol](http://www.Earth.li/mathbiol), diunduh 19 Maret 2011.



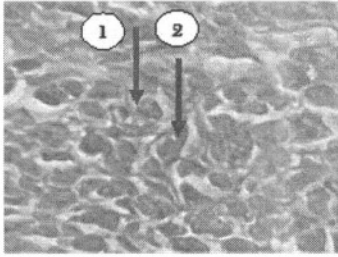
**Gambar 2.a.** Gambaran histologis angiogenesis hari ke-3 kelompok perlakuan dengan pembesaran 400X. Angiogenesis (tanda panah) terlihat jelas dan tampak banyak



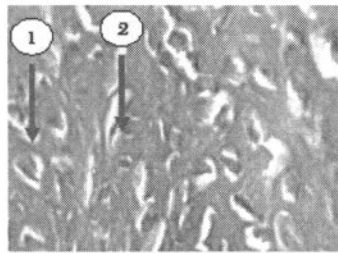
**Gambar 2.b.** Gambaran histologis angiogenesis hari ke-3 kelompok kontrol dengan pembesaran 400X. Angiogenesis (tanda panah) terlihat jelas dan tampak sedikit



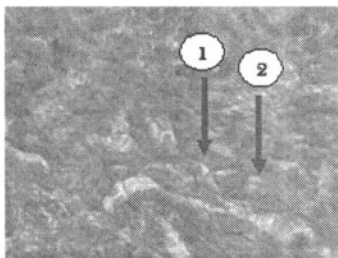
**Gambar 2.c.** Gambaran histologis hari ke-3 kelompok perlakuan dengan pembesaran 400X. Kolagen (tanda panah nomor 1) terlihat jelas tetapi tipis dan eritrosit (tanda panah nomor 2) tampak sedikit



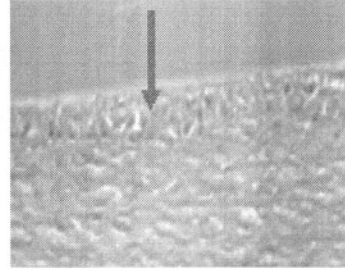
**Gambar 2.d.** Gambaran histologis hari ke-3 kelompok kontrol dengan pembesaran 400X. Kolagen (tanda panah nomor 1) terlihat kurang jelas dan eritrosit (tanda panah nomor 2) tampak banyak



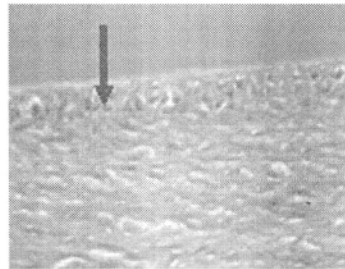
**Gambar 2.e.** Gambaran histologis hari ke-14 kelompok perlakuan dengan pembesaran 400X. Kolagen (tanda panah nomor 1) terlihat jelas dan eritrosit (tanda panah nomor 2) tampak lebih sedikit



**Gambar 2.f.** Gambaran histologis hari ke-14 kelompok kontrol dengan pembesaran 400X. Kolagen (tanda panah nomor 1) terlihat jelas tetapi tipis dan eritrosit (tanda panah nomor 2) tampak masih banyak



**Gambar 3.a.** Gambaran histologis osteoblas hari ke-14 kelompok perlakuan dengan pembesaran 400X. Osteoblas (tanda panah) terlihat jelas dan tampak banyak



**Gambar 3.b.** Gambaran histologis osteoblas hari ke-14 kelompok kontrol dengan pembesaran 400X. Osteoblas (tanda panah) terlihat jelas dan tampak sedikit